



UNIWERSYTET ROLNICZY
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt
Katedra Biotechnologii Zwierząt

Prof. dr hab. Dorota A. Zięba-Przybylska
Tel. 12 429 72 24
Kom. 601 415 283
Fax: 12 429 75 47
e-mail: dorota.zieba-przybylska@urk.edu.pl

OCENA

PRACY DOKTORSKIEJ LEK. WET. NATALII SZYSIAK

wykonanej pod opieką naukową Pani dr hab. Urszuli Kosior-Korzeckiej, prof. Uczelni
w Zakładzie Patofizjologii, Katedrze Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych
na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie,
nt.:

**UDZIAŁ NEUROKININY B, DYNORFINY I KISSPEPTYN W ETIOPATOGENEZIE OPÓŹNIENIA
DOJRZEWANIA PŁCIOWEGO U OWIEC**

Recenzja została przygotowana na podstawie uchwały nr 18/2026 Rady Dyscypliny Weterynaria
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, podjętej w dniu 18 czerwca 2026 r.

Uwagi ogólne

Rozprawa doktorska przedstawia fizjologicznie złożony, do końca nierozpoznany proces dojrzewania płciowego u przeżuwaczy. Jest on uzależniony od wielu czynników, zależny m.in. od osiągnięcia odpowiedniej kondycji/metabolizmu jagnięcia oraz prawidłowego działania osi hormonalnej regulującej rozród. U części młodych zwierząt można obserwować opóźnienie dojrzewania, co ma znaczenie praktyczne w hodowli, ponieważ wpływa na efektywność produkcji. Aktywacja osi podwzgórze–przysadka–gonady (HPG/HPO) pozostaje pod kontrolą sygnałów neuroendokrynnych oraz czynników metabolicznych, takich jak leptyna, która działa na poziomie podwzgórza, obszarze neuronów jąder łukowatych (ARC), stymuluje aktywność neuronów odpowiedzialnych za wydzielanie gonadoliberyny (GnRH) i w konsekwencji zwiększenie sekrecji LH i FSH. W podwzgórzku istotną rolę pełni także układ KNDy (kisspeptyna–neurokinina B–dynorfina A), który działa jako kluczowy regulator dojrzewania płciowego poprzez modulację aktywności neuronów GnRH. Kisspeptyna, w szczególności KiSS-10, jest opisywana jako stymulator osi rozrodczej, gdyż nasila aktywność prowadzącą do uwalniania GnRH i zwiększa wydzielanie LH oraz FSH, a jej znaczenie potwierdzają również badania z zastosowaniem KiSS w warunkach doświadczalnych. Znaczenie neurokininy B (NKB) i dynorfiny A (DynA) w inicjacji dojrzewania jest natomiast mniej jednoznaczne. NKB działa poprzez receptor NK3R i w doniesieniach wiąże się z uruchomieniem procesu dojrzewania, jednak brakuje spójnych danych dotyczących tego, jak NKB, KiSS i DynA współtworzą mechanizm prowadzący do rozpoczęcia dojrzewania w kontekście osi rozrodczej u owiec. Dynorfina A jest zwykle

opisywana jako sygnał o charakterze hamującym (poprzez receptor KOR), ograniczający aktywność osi rozrodczej, lecz pojawiają się również przesłanki, że może ona oddziaływać na poziomie przysadki i modyfikować wydzielanie LH/FSH, co wymaga potwierdzenia.

W konsekwencji, istnieje istotna luka badawcza: brakuje danych pozwalających powiązać układ KiSS-NKB-DynA z czasem rozpoczęcia dojrzewania u owiec oraz określić, w jakim stopniu NKB i DynA wpływają bezpośrednio na funkcję przysadki i na sekrecję KiSS-10. Podsumowując, rozprawa doktorska spełnia kryterium prezentowania ogólnej wiedzy teoretycznej na poziomie wymaganym do uzyskania stopnia doktora. Zakres, głębokość oraz sposób prezentacji zagadnień świadczą o dojrzałości naukowej Autorki oraz jej zdolności do samodzielnego poruszania się w obrębie złożonych problemów badawczych.

Uwagi szczegółowe

Wyniki przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej zostały opublikowane w trzech spójnie tematycznych pracach oryginalnych w czasopiśmie indeksowanym przez ISI Web of Science, tj. w *Journal of Veterinary Research* (IF = 1,5; 140 pkt. MEIN). Praca doktorska, przygotowana w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów, jest opatrzona załącznikami: syntetycznym komentarzem liczącym 49 stron tekstu, zawierającym: Wykaz prac naukowych wchodzących w skład cyklu, Spis treści, Wykaz skrótów, Streszczenie rozprawy w języku polskim i angielskim, Wstęp, Hipotezę i Cel badań, Materiał i Metody, Wyniki badań, Dyskusję, Wnioski, Bibliografię, stanowiącą prawidłowo dobranych 46 prac anglojęzycznych. Prace opublikowane po 2016 roku stanowią ok. 24%, w tym są 3 publikacje z 2020 roku, 4 z lat 2021-2025. Poszerzona analiza bibliografii wskazuje, że zdecydowana większość cytowanych prac pochodzi z czasopism o wysokim prestiżu naukowym, głównie z pierwszego kwartyłu (Q1), stanowiących około 48% wszystkich artykułów. Istotny udział mają również publikacje z Q2 – 43%, natomiast jedynie niewielka część pochodzi z czasopism o niższym wskaźniku oddziaływania. W pracy wykorzystano artykuły opublikowane w wiodących czasopismach naukowych, takich jak *Biology of Reproduction*, *Journal of Clinical Investigation*, *Journal of Neuroscience* czy *Endocrinology*. Po załączeniu trzech oryginalnych prac naukowych Doktorantka zamieściła oświadczenia współautorów o ich wkładzie w przygotowanie publikacji stanowiących rozprawę doktorską. Zatem, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska spełnia wszystkie wymagania Uchwały nr 5/2023-2024 Senatu UP w Lublinie z dnia 27 października 2023 roku.

Lekarz weterynarii Natalia Szysiak opublikowała wyniki w trzech oryginalnych pracach badawczych:

1. Szysiak Natalia, Kosior-Korzecka Urszula, Longo Vincenzo, Patkowski Krzysztof, Greguła-Kania Monika, Nowakiewicz Aneta, Bochniarz Mariola, Junkuszew Andrzej. Influence of neurokinin B, dynorphin A and kisspeptin-10 on in vitro gonadotropin secretion by anterior pituitary cells isolated from pubescent ewes. *Journal of Veterinary Research* 2025; 69(1):121-129. DOI: 10.2478/jvetres-2025-0003
2. Szysiak Natalia, Kosior-Korzecka Urszula, Greguła-Kania Monika, Patkowski Krzysztof, Fila Mateusz, Junkuszew Andrzej. Effect of neurokinin B and dynorphin A on kisspeptin-10 secretion from the anterior pituitary cells of pubescent ewes in vitro. *Journal of Veterinary Research* 2025; 69(2):299-304. DOI: 10.2478/jvetres-2025-0026
3. Szysiak Natalia, Kosior-Korzecka Urszula, Greguła-Kania Monika, Patkowski Krzysztof, Fila Mateusz, Junkuszew Andrzej. Relationship between Kisspeptin-10, Neurokinin B, and Dynorphin A in the course of normal and delayed puberty in ewes. *Journal of Veterinary Research* 2026; 70(1), 139-147, DOI: 10.2478/jvetres-2026-0010

Prace te są pracami zespołowymi, w których, co warto podkreślić, Doktorantka jest pierwszym autorem z indywidualnym, 55-procentowym udziałem merytorycznym w opracowaniu koncepcji pracy, realizacji badań, zestawieniu, analizie i interpretacji danych, napisaniu pierwszej wersji manuskryptu, dokonaniu korekty po recenzjach, krytycznej ocenie artykułu oraz ostatecznej akceptacji artykułu. Współautorstwo jest w pełni zrozumiałe, biorąc pod uwagę ogrom przeprowadzonej pracy z zastosowaniem metod *in vivo*, *in vitro* i innych; oceniam zatem wkład merytoryczny Autorki w opublikowane prace jako znaczący.

Tematyka podjęta w rozprawie doktorskiej wpisuje się w zakres badań prowadzonych przez promotorkę rozprawy, panią profesor Uczelni, dr hab. Urszulę Kosior-Korzecką obejmujących zagadnienia zaburzeń procesów fizjologicznych u owiec.

Cel badawczy i metody jego realizacji

Zaletą pracy jest czytelne sformułowanie hipotez oraz szczegółowych celów. Doktorantka postawiła trzy spójne hipotezy dotyczące:

- zależności pomiędzy stężeniami KiSS-10/NKB/DynA w osoczu oraz masą ciała a terminem pierwszej owulacji,
- bezpośredniego wpływu KiSS-10/NKB/DynA na wydzielanie LH i FSH przez komórki przysadki gruczołowej jarek *in vitro*,
- wpływu NKB i DynA na sekrecję KiSS-10 przez komórki przysadki gruczołowej jarek w warunkach *in vitro*.

Taki układ badań umożliwił jednocześnie opis fenotypu dojrzewania (*in vivo*) oraz sprawdzenie działania wybranych czynników na poziomie komórek przysadki (*in vitro*). To podejście dwupoziomowe (systemowe + komórkowe) oceniam jako szczególnie wartościowe.

Badania przeprowadzono na jarkach rasy Uhruska, w warunkach *in vivo* w okresie od stycznia do listopada, porównując zwierzęta z ciąży pojedynczych (S, n=13) oraz bliźniaczych (T, n=11), przy czym czas do wystąpienia dojrzewania oceniano na tle różnic wynikających z typu ciąży. Owce ważono co 2 tygodnie od urodzenia do ukończenia 10. miesiąca życia. Pomiedzy 6. a 10. miesiącem życia monitorowano aktywność jajników za pomocą laparoskopii. W trakcie doświadczenia wykonywano oznaczenia stężeń KiSS-10, NKB i DynA w próbach osocza pozyskanego z krwi pobranej z żyły szyjnej zewnętrznej. Dla uzupełnienia danych z doświadczenia *in vivo* zastosowano również podejście *in vitro*, w którym oceniano wpływ KiSS-10, NKB i DynA na wydzielanie LH i FSH do medium w hodowli pierwotnej komórek przysadki gruczołowej oraz badano, czy NKB i DynA oddziałują na sekrecję KiSS-10, dzięki czemu możliwe było wstępne opisanie mechanizmów oddziaływania tych neuropeptydów w obrębie osi rozrodczej.

Mocnymi stronami metodyki pracy są:

- model komórkowy, który dobrze odpowiada na pytanie o „bezpośredni” wpływ wybranych czynników na poziomie przysadki,
- zastosowanie kilku stężeń i kilku punktów czasowych, co zwiększyło wiarygodność wnioskowania o zależnościach dawka–czas.

Nowatorskość tematyki badawczej i znaczenie dla dziedziny

Nowatorskość tematyki pracy wynika przede wszystkim z ukierunkowania badań na praktycznie niedostatecznie wyjaśniony w owczym modelu mechanizm inicjacji dojrzewania płciowego w kontekście jednoczesnej roli KNDy, tj. kisspeptyny (KiSS-10), neurokininy B (NKB) i dynorfiny A (DynA). W wielu dotychczasowych publikacjach badano pojedyncze elementy tej osi albo

koncentrowano się na ogólnych zależnościach między aktywnością neuronów a zmianami hormonalnymi, natomiast rzadziej łączono poziom przebiegu dojrzewania z równoczesną oceną zależności między KiSS-10, NKB, DynA a hormonami przysadkowymi LH i FSH. Dodatkowo, istotną wartością jest uwzględnienie zróżnicowanego tła rozwojowego poprzez porównanie potomstwa z ciąży pojedynczych i bliźniaczych, co pozwala ocenić, jak czynniki związane z przebiegiem rozwoju mogą przesunąć w czasie aktywację osi rozrodczej, a tym samym kiedy i w jakich warunkach system KNDy prawdopodobnie „przełącza” się na program dojrzewania.

Znaczenie dla dziedziny ma zarówno charakter poznawczy, jak i potencjalnie aplikacyjny. Poznawczo praca wzmacnia zrozumienie mechanizmów neuroendokrynnych leżących u podstaw opóźnienia dojrzewania u przeżuwaczy, wskazując na to, że elementy układu KNDy mogą bezpośrednio uczestniczyć w regulacji funkcji przysadki oraz w kontrolowaniu sekrecji KiSS-10, a nie jedynie pozostawać w roli wtórnych wskaźników zmian rozwojowych. Aplikacyjnie wyniki mogą stanowić punkt wyjścia do opracowania strategii ukierunkowania dojrzewania w stadach, szczególnie w sytuacjach, gdy opóźnione uzyskanie dojrzałości płciowej obniża efektywność rozrodu. W szerszej perspektywie badania te wpisują się w rozwój wiedzy o tym, jak układ KNDy integruje sygnały rozwojowe i metaboliczne z uruchamianiem osi rozrodczej, co jest kluczowe dla przełożenia mechanizmów biologicznych na praktykę hodowlaną i interwencje wspierające rozród.

Umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez autora rozprawy.

Doktorantka wykazuje wysoką zdolność do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, o czym świadczy kompletność realizacji założeń badawczych oraz spójność działań od etapu planowania doświadczeń po opracowanie wyników. Konstrukcja metodyki obejmuje badania *in vivo*, w których wykorzystano kontrolowane porównanie grup o odmiennym statusie rozwojowym (ciąża pojedyncza vs. bliźniacza) oraz prowadzenie obserwacji w zdefiniowanym oknie czasowym rozwoju, co wymaga adekwatnego doboru schematu czasowego pobrań i ujednolicenia procedur analitycznych. Równoległe zaplanowanie badań *in vitro* umożliwiło testowanie zależności mechanistycznych na poziomie komórkowym, co wskazuje na umiejętność projektowania eksperymentów o charakterze przyczynowym, a nie wyłącznie korelacyjnym. Samodzielność przejawia się także w prowadzeniu interpretacji wyników w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy dotyczącego osi KNDy i regulacji osi rozrodczej oraz w formułowaniu wniosków dotyczących powiązań między KiSS-10, NKB, DynA a wydzielaniem LH i FSH. Dodatkowo, 55% deklarowany udział własny sugeruje aktywne kierowanie przebiegiem prac badawczych, w tym wkład w przygotowanie koncepcji, analizę danych oraz opracowanie wyników do publikacji, co łącznie stanowi istotny wskaźnik dojrzałości naukowej wymaganej na tym etapie rozwoju naukowego.

Pytania i/lub uwagi, na które Recenzent oczekuje odpowiedzi kandydata w czasie obrony:

- W jaki sposób zdefiniowano „czas dojrzewania” u jagniąt (jaką przyjęto zmianę hormonalną lub kryterium biologiczne) oraz czy kryterium to było jednolite w obu grupach (S i T)?
- Czy w pracy zakładano konkretny kierunek zależności przyczynowej w osi KNDy (np. NKB → KiSS-10 → LH/FSH), i jak to Pani uzasadni na podstawie uzyskanych danych *in vivo* i *in vitro*?
- Jaka jest wiarygodność porównania poziomów peptydów między grupami oraz w kolejnych miesiącach życia, biorąc pod uwagę zmienność osobniczą i ograniczenia liczebności grup (S n=13, T n=11)?

- Czy istnieją hipotezy, dlaczego DynA wykazuje zależność odwrotną do KiSS-10 i NKB, oraz czy rozważano możliwość „poziomu przysadkowego” działania DynA w oparciu o literaturę i uzyskane obserwacje?
- W jakim stopniu wyniki wspierają model bramkowy KNDy dla rozpoczęcia dojrzewania, a w jakim mogą wskazywać na bardziej złożoną sieć regulacyjną (np. udział leptyny/insulino-podobnych czynników wzrostu, innych peptydów i neuropeptydów)?

KONKLUZJA

Rozprawę doktorską nt. „Udział neurokininy B, dynorfiny i kisspeptyn w etiopatogenezie opóźnienia dojrzewania płciowego u owiec” oceniam wysoko. Autorka wykazała się szeroką wiedzą z zakresu podjętej tematyki badawczej, umiejętnością planowania i przeprowadzenia badań oraz interpretacji uzyskanych wyników. Potrafiła także sprawnie pracować w zespole. Cel postawiony w pracy został w pełni zrealizowany.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska nt. „Udział neurokininy B, dynorfiny i kisspeptyn w etiopatogenezie opóźnienia dojrzewania płciowego u owiec” i indywidualny wkład Doktorantki spełniają wymogi określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Weterynarii UP w Lublinie o dopuszczenie lek. wet. Natalii Szysiać do dalszych etapów postępowania ws. nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk weterynaryjnych w dyscyplinie naukowej weterynarii.

Z poważaniem,



Signed by /
Podpisano przez:

Dorota Anna Zięba-
Przybylska

Date / Data: 2026-
08-10 16:29

prof. dr hab. Dorota Zięba-Przybylska

Kraków, 10 sierpnia 2026 roku